

Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе





А. Д. Голстик

« 02 » апреля 2015 г.

Регистрационный № УД - 2233/баз

Молекулярная биотехнология

**Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:**

1-31 01 01 Биология (по направлениям)

специализаций 1-31 01 01-01 25 Молекулярная биология и

1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

2015 г.

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Подготовка высококвалифицированных специалистов-биологов требует овладения ими знаний в различных областях современной биологии. Наиболее развивающейся областью биологической науки в настоящее время является молекулярная биология, занимающаяся расшифровкой молекулярных основ жизнедеятельности прокариотических и эукариотических организмов.

Курс «Молекулярная биотехнология» предназначен для студентов 4 курса биологического факультета, специализирующихся на кафедре молекулярной биологии. Изучение данной дисциплины – важный этап в подготовке современных специалистов в области молекулярной биологии.

Цель курса – формирование у студентов представлений об основных методах, используемых для манипулирования с нуклеиновыми кислотами и создания генетических конструкций для экспрессии генов в разных системах.

В задачу курса входит изучение ферментов нуклеаз, полимераз, модифицирующих ферментов для создания рекомбинантных молекул, векторных молекул для прокариотических и эукариотических систем. Знакомство с особенностями клонирования и экспрессии генов в клетках бактерий, дрожжей, растений, животных, создания трансгенных растений и животных. Изучение методов секвенирования ДНК, ПЦР, нокаута генов. Полученная студентами информация позволит им более глубоко понимать современные проблемы и достижения молекулярной биотехнологии, а также подготовит к восприятию новых сведений по различным аспектам регуляции метаболизма в прокариотических и эукариотических клетках и осуществлению направленного генно-инженерного конструирования организмов, практической генотерапии разных заболеваний.

В ходе изучения данного курса студенты должны

знать:

- основные ферменты и методы для модификации нуклеиновых кислот;
- основные векторы, используемые в молекулярной биотехнологии;
- особенности клонирования и экспрессии генов в клетках прокариот и эукариот;
- методы создания трансгенных растений и животных;
- основные приемы генотерапии

уметь:

- использовать терминологию молекулярной биотехнологии и легко оперировать ее терминами;
- использовать знания молекулярной биотехнологии для понимания особенностей использования трансгенных организмов в биотехнологии;
- уметь выделять препараты ДНК, создавать рекомбинантные молекулы и их анализировать;
- применять знания о закономерностях молекулярно-биологических процессов при изучении научной литературы по тематике курсовых и дипломных работ, а также при изучении смежных биологических дисциплин.

При чтении лекционного курса следует применять технические средства обучения для демонстрации иллюстраций, презентаций.

Для организации самостоятельной работы студентов по курсу необходимо использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания в тестовой форме для самоконтроля и др.).

Лабораторные занятия предусматриваются в виде практических задач по получению рекомбинантных молекул, их анализу, изучению экспрессии генов. Студенты знакомятся с основными методами анализа ДНК: секвенирование, ПЦР и соответствующим оборудованием.

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний в форме устного опроса, коллоквиумов, тестового компьютерного контроля по темам и разделам курса. Для общей оценки качества усвоения студентами учебного материала рекомендуется использование рейтинговой системы.

Программа курса рассчитана на 102 часа, из них 40 аудиторных: 26 – лекционных, 10 – лабораторных занятий, 4 часа – контролируемой самостоятельной работы студентов.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				
		Аудиторные				Самост. работа
		Лекции	Практ., семинар.	Лаб. занятия	КСР	
1	Введение	2				2
2	Технология рекомбинантных ДНК	8		6		18
3	Молекулярная биотехнология микробиологических систем	6		2	2	16
4	Молекулярная биотехнология растений	6		2		16
5	Молекулярная биотехнология животных	4			2	10
	ИТОГО:	26		10	4	62

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

1. ВВЕДЕНИЕ

Этапы развития биотехнологии. Основные открытия молекулярной биологии и генетики, послужившие фундаментом для возникновения

генетической инженерии. Молекулярно –биотехнологическая революция. Коммерциализация молекулярной биологии.

2. ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК

Ферменты, используемые в генетической инженерии их основные свойства и применение.

Рестрицирующие эндонуклеазы . Другие ферменты эндонуклеазного действия (S1-нуклеаза, Bal31- нуклеаза). Экзонуклеазы . Экзонуклеазы, действующие на одноцепочечные ДНК. Экзонуклеазы, действующие на двухцепочечные ДНК (3'-5' и 5'-3').

Полимеразы. ДНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-зависимые РНК-полимеразы. РНК-зависимые ДНК-полимеразы. ДНК-лигазы.

ДНК-модифицирующие ферменты. Фосфатазы и киназы.

Векторы используемые в генетической инженерии и их основные характеристики.

Векторы на основе репликонов бактериальных плазмид. Плазмиды pUC18, pBR322. Векторы на основе бактериофагов (фаговые, фазмидные, космидные).

Основные подходы к получению библиотек ДНК прокариотических и эукариотических организмов.

Получение библиотеки ДНК с помощью вирусных или плазмидных векторов. Два типа библиотек ДНК используется для разных целей. Получение библиотек кДНК из отобранных популяций молекул мРНК

Выявления нужных клонов в генной библиотеке путем гибридизации с радиоактивным ДНК-зондом. Выделение перекрывающихся клонов ДНК («прогулка по хромосоме») с целью идентификации соседних генов. Идентификация генов прокариот в клетках *E.coli* путем экспрессии клонированного гена (ферменты, гены биосинтеза нуклеотидов, аминокислот, витаминов). Идентификация клонов ДНК путем трансляции *in vitro*. Выделение и очистка рекомбинантных клонов.

Методы секвенирования ДНК. Секвенирование ДНК по Сэнгеру. Дидезоксисеквенирование. Использование нерадиоактивных меток при секвенировании. Конструирование делеций для секвенирования. Приготовление матриц для секвенирования ДНК. Компьютерный анализ ДНК и кодируемых белков. Использование для анализа баз данных ДНК и белковых последовательностей (GenBank, EMBL, FASTA, PIR и т.п.) .

Аmplификация ДНК с помощью ПЦР. Амплификация РНК с помощью ПЦР. Использование методов ПЦР-диагностики в медицине, криминалистике, сельском хозяйстве. Молекулярное клонирование ПЦР-продуктов.

Экспрессия белков в *E.coli*. Экспрессия белков с использованием T7 РНК-полимеразы и промоторной системы. Экспрессия белков с использованием векторов с регулируемыми элементами фага лямбда. Продукция слитых белков с использованием специальных экспрессирующих

векторов. Векторы для секреции экспрессируемых белков в цитоплазму. Векторы для модификации экспрессируемых белков (присоединение доменов для последующей очистки белков, для иммунодиагностики белков)

Направленный мутагенез и генная инженерия белков.

3. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Выделение и очистка плазмидной ДНК. Методика трансформации клеток *E.coli* плазмидной ДНК. Методика постановки ПЦР. Биотехнология утилизации целлюлозы. Биотехнология утилизации крахмала. Биотехнология получения белка одноклеточных организмов. Биотехнология микробных инсектицидов и других средств защиты растений. Микробные удобрения.

Молекулярная биотехнология грамположительных бактерий (*Bacillus*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*). Молекулярная биотехнология дрожжей (*Sacharomyces*, *Pichia*).

Новые подходы к анализу экспрессии генома: использование микрочипов для анализа экспрессии генов. Использование двухгибридных систем для анализа белок-белковых взаимодействий.

4. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

Векторные системы на основе T_1 плазмид. Трансформация растений с использованием физических методов доставки ДНК: электропорация, бомбардировка микрочастицами, инъекция ДНК. Регенерация трансгенных растений из трансформированных протопластов (клеток). Основные направления создания трансгенных растений (устойчивые к гербицидам, устойчивые к патогенным микроорганизмам, измененным составом липидов и белков, устойчивые к стрессовым факторам). Получение трансгенных растений с полезными свойствами. Достижения молекулярной биотехнологии растений.

5. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

Введение ДНК в клетки животных. Системы экспрессии на основе бакуловирусов насекомых. Продукция больших количеств белков в клетках насекомых.

Системы для экспрессии белков в животных клетках. Векторы на основе вирусов животных.

Получение трансгенных животных с полезными свойствами.

Конструирование линий клеток, суперпродуцирующей биологически активные вещества. Генная терапия болезней человека и животных, являющихся следствиями дефектов генетического аппарата и его функций.

ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Б.Глик, Дж.Пастернак. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.Мир, 2002.
2. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. Сибирское университетское издательство, Новосибирск. 2004.
3. Патрушев Л.И. Экспрессия генов / Л.И. Патрушев. М.: Наука, 2000.
4. Картель Н.А., Кильчевский А.В. Биотехнология в растениеводстве. Технология, Минск, 2005.
5. Рыбчин В.Н. Основы генетической инженерии. Санкт-Петербург: Издательство СПбГТУ, 2002.

Дополнительная:

1. Клонирование ДНК. Методы: Под ред. Д.Гловера. М.Мир.,1988.
2. Новое в клонировании ДНК. Методы: Под ред. Д.Гловера. М.Мир.,1989.
3. Сельскохозяйственная биотехнология: векторные системы молекулярного клонирования. М., Агропромиздат, 1991.
4. Сельскохозяйственная биотехнология/ В.С.Шевелуха, Е.А.Калашникова, Е.С.Воронин и др.,-2-е изд.-М: Высшая школа, 2003.
5. David P. Clark, Nanette J. Pazdernik .Biotechnology.Applying the Genetic Revolution. Elsevier Academic Press , 2009.
6. В.Lewin. Genes VIII / Lewin B. Prentice Hall, 2004.